

University of Groningen

MicroRNA expression patterns in precursor lesions and (hereditary) breast cancer

Qi, Liqiang

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2009

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Qi, L. (2009). *MicroRNA expression patterns in precursor lesions and (hereditary) breast cancer*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

中文摘要

乳腺癌是造成西方妇女癌症相关死亡的主要原因之一。有效控制乳腺癌相关死亡的有效手段是在浸润性乳腺癌的早期阻止其发展,换句话说,即发现并且治疗乳腺癌的癌前病变。尽管从大规模流行病学研究中获取了很多关于乳腺癌癌前病变的知识,仍然很难降低大的队列研究的结果用到病人个体水平。乳腺癌不是一种单一的疾病,而是由几种不同的通路引起的肿瘤,而这些肿瘤有着各自不同的行为和对治疗的不同反应。一个很好的例子是由于 BRCA 基因的生殖细胞系突变而引起的遗传性乳腺癌。这类肿瘤往往有高分级的表型。可以理解乳腺癌不仅在最终表型有差异而且在癌前病变阶段有所不同。高分级乳腺癌来自高分级的癌前病变,反之,低分级乳腺癌来自低分级的癌前病变。平坦型上皮不典型性 (Flat epithelial atypia, FEA) 可能是低分级恶性肿瘤的癌前病变。对于 FEA 的进展时间知之甚少,因而临床如何去处理这类病变仍未明了。乳腺癌筛查的普及很可能会导致患 FEA 的病人检出数目的增加,因为 FEA 的一个特征性病变是可以在钼靶片上发现微小钙化。

在本论文中我们研究 microRNA 在乳腺癌发展中的作用。对这种最近发现的蛋白表达调节剂在乳腺癌发生中所起的作用知之甚少。microRNA 是一种小的 (18—25 核苷酸长)、非编码 RNA,可以在转录后水平负性调节蛋白质的表达。在一些肿瘤当中,miRNA 的表达上调或下调以及它们的靶基因已经被证实。尽管一些 microRNA 的靶基因已经被证实,但大多数 microRNA 的靶基因仍然未知。

我们将所有的 FEA 病例重新复习,因为即使是专家对乳腺癌癌前病变的认识和分类也存在争议。大多数组织蜡块也包括导管原位癌 (DCIS),一些蜡块还包括浸润性导管癌 (IDC)。为了便于认识不同的成分我们应用了一些基本的免疫组化染色。

论文第二章我们回顾了 in 乳腺癌中相关 microRNA 及其前体的表达。microRNA 在乳腺癌中的角色和它在其他肿瘤中一样,是当前的研究热点。文献报道了大量 microRNA 已经被证实的和预测的靶基因。这些靶基因中,许多可以编码蛋白质,后者在细胞的生存和增殖、分化、运动和迁移以及激素受体表达方面发挥作用。以上提示我们 microRNA 在肿瘤细胞转移潜能方面有重要作用。我们预测在不久的将来, microRNA 将会作为肿瘤诊断和预后的标记物以及生物标记物被广泛应用。更为重要的是, microRNA 抑制剂或是前体分子可能作为治疗癌症的有效工具。

我们在第三章中用原位杂交的方法描述了 miR-21 在 15 例 FEA 和/或导管内癌和 17 例浸润性导管癌中的表达。用免疫组化方法研究了 miR-21 的靶基因 PDCD4、TM1 和 PTEN 的表达。我们发现从正常导管上皮到 FEA、DCIS 进而到 IDC, miR-21 的表达有逐渐增高的趋势, 和形态学的变化平行。我们没有在 miR-21 和先前报道的它的靶基因之间建立关系。显然, 存在其他的机制像基因扩增、基因甲基化和蛋白降解等影响蛋白的水平。总之, 从正常导管上皮到 FEA、DCIS 进而到 IDC, miR-21 的表达有逐渐增高的趋势。因此, miR-21 是和乳腺癌发生密切相关的候选 microRNA。影响 miR-21 的通路需要通过体内外试验来进一步阐明。

在第四章中, 我们用 miRNA 原位杂交的方法, 研究了另外的 microRNA 的表达, 包括 miR-145、miR-146a、miR-155、miR-205 和 miR-210 在 FEA、DCIS、和 IDC 中的表达。以上这些 microRNA 的选择部分来自于第二章中所总结的文献资料。我们发现就 miR-145、miR-205 和 miR-210 而言, 三者的表达在 FEA、DCIS 和 IDC 相似。miR-145 和 miR-205 的表达局限于肌上皮细胞, 因此, 这两个 microRNA 在乳腺导管癌的发生过程中发挥作用的可能性不大。比较而言, miR-155 和 miR-205 的表达局限于腺上皮细胞。就 miR-146a 和 miR-155 而言, 正常乳腺, FEA 和 DCIS 中的表达相近, 而在 IDC 中表达下降。miR-146a 和 miR-155 可能在肿瘤侵袭中起一定作用。

我们的资料和文献报道并非总是一致。多数文献中的研究只针对浸润性癌, 并且资料来自于整个组织蜡块的 qRT-PCR 结果。这些研究常常着眼于临床行为而非肿瘤发生。我们也用 qRT-PCR 的方法检测了我们资料中的正常乳腺和浸润性乳腺癌中 microRNA 的表达。我们通过这种方法得出的结果与文献资料的结果相符。这表明我们 microRNA-ISH 结果和文献的差异并不能用组织选择不同来解释。特别是当研究者对癌前病变感兴趣时, 因为此类病变常常在整个组织切片中占一小部分, 因而, microarray 和 qRT-PCR 的结果需谨慎看待, 需要原位杂交来证实。

原位杂交的技术可以非常精确地显示成分复杂的组织当中特定细胞类型 microRNA 的表达。该方法与 microarray 和 PCR 技术的结果差异或是与以细胞系为研究对象结果的差异可以用成分复杂的组织当中研究靶点的不同来解释。Microarray 和 PCR 方法所得出的 microRNA 高表达可以反映出非肿瘤细胞的表达上调。这并不是说上调表达并不重要, 因为肿瘤间质和肿瘤细胞有内在联系。理想的研究肿瘤细胞和肿瘤间质的方法是用显微微切的材料。

原位杂交技术的一个缺点是很难定量，尽管通常可以区分无表达、低表达、中等程度表达和强表达。上调或下调表达的评价最好用于同一组织蜡块，因为不同蜡块的固定时间和其他参数不同，影响了 microRNA 的保存。理想的情况是 microarray 和 PCR 资料与原位杂交的资料相结合。

我们在第五章综述了遗传性乳腺癌及其与位于染色体 17q21 的 BRCA1 和位于染色体 13q12-13 的 BRCA2 基因突变的关系。先天性一个父辈基因突变的病人如果第二个父辈基因缺失会导致功能的完全丧失。这些基因功能的完全丧失不仅仅见于遗传性乳腺癌，而且可在散发性乳腺癌中也相对常见，说明这些基因在乳腺癌发生过程中有重要作用。BRCA 生殖系突变所引发的乳腺癌常有其独特的形态学表现和临床行为。BRCA1 和 BRCA2 有很多功能。BRCA1 基因蛋白在 DNA 损伤修复特别是同源性组合（HR）和非同源性末端连接（NHEJ）修复双链 DNA 断裂发挥重要作用。BRCA2 基因编码的蛋白也在 HR 中有重要作用，但并不在 NHEJ 中起作用。总而言之，BRCA1 和 BRCA2 可以作为转录调节因子，调控参与 DNA 损伤修复基因，细胞周期检查点和染色体塑型相关基因的表达。比较基因组杂交和基因表型研究等清楚地表明遗传性乳腺癌和散发性乳腺癌有明显区别。令人奇怪的是，有关遗传性乳腺癌地 microRNA 表型地研究非常之少，这也是我们第六章研究的原动力。

在第六章中我们描述了 8 例来自于已经证实 BRCA1 突变而没有 BRCA2 突变的乳腺癌的 microRNA 表型，并且和 10 例散发性乳腺癌和 2 例正常乳腺的 microRNA 表型相比较。非监督聚类分析得出了一个令人惊讶的结果：雌激素受体较 BRCA1 更显著影响 microRNA 表达。正常乳腺和雌激素受体阳性病例归纳为一类。这符合长期以来所共识的雌激素可以作为乳腺癌诱导剂。因为我们对 BRCA1 突变的乳腺癌患者的 microRNA 的表达更感兴趣，而这类病人通常为雌激素受体阴性，我们随后进一步只对 ER 阴性的病例进行分析。和正常组织相比，有 116 个 microRNA 在 ER 阴性的 BRCA1 突变的乳腺癌患者差异表达。和先前的研究结果所认定的 BRCA1 相关的乳腺癌是一个独立的整体，比较 ER 阴性的散发性乳腺癌和 ER 阴性的 BRCA1 阳性的乳腺后，发现 29 个 microRNA 差异表达。分析这些 microRNA 的预测的靶基因很可能提供 BRCA1 突变影响的通路的重要信息。其他学者也观察了雌激素受体状态对乳腺癌 microRNA 表型的影响。令人惊讶的是，不同研究之间得出的结论很少重叠。乳腺癌可能是一种异质性肿瘤的混合物，不同病例的选择对结果有影响。大的长期存在并伴有转移的肿瘤和小的局限于乳腺的肿瘤有不同的表型特征；绝经前病人的 microRNA

表型不同于绝经后的病人，等等。雌激素受体状态很重要，但仅是参数之一，并且实际上不可能收集足够大的研究病例组来比较所有的区别。

本论文我们提供了资料分析 microRNA 在细胞分化和乳腺癌发病机制方面的重要作用。我们的研究更多的是描述性研究，需要功能学研究的证实。很显然，microarray 和 qRT-PCR 的结果需要组织的原位杂交验证。除了遗传学机制外，另外的一些调节蛋白质表达表观遗传学机制必须加以考虑。microRNA 表达和蛋白质表达（最终一切都归于蛋白表达）的关系仍不明了。microRNA 表型研究可能会填补 RNA 表型和蛋白质表达之间的这一空白（~30% 的 RNA 转录本不翻译成蛋白）。microRNA 表达和干扰的效应必须在细胞系中研究。我们如何用 microRNA 特异地干扰一个肿瘤，达到所用的肿瘤细胞而不损害健康组织？从实验室到临床还有很长的路要走，但是 microRNA 无疑是抗击癌症非常有前途的治疗靶向。